

## <総説>線溶系の調節機構：とくに \_2-Macroglobulinとその受容体について

著者名(日)	安河内 太郎, 佐藤 雅寛男, 家子 正祐, 沢田 賢一
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	14
号	1
ページ	1-12
発行年	1995-06-30
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00008022/">http://id.nii.ac.jp/1145/00008022/</a>

〔総説〕

線溶系の調節機構

—とくに、 $\alpha_2$ -Macroglobulinとその受容体について—

安河内太郎\*, 佐藤雅寛男\*, 家子正祐\*\*, 沢田賢一\*\*

\* 北海道医療大学歯学部内科講座

\*\* 北海道大学医学部第二内科講座

\* (主任: 安河内太郎)

\*\* (主任: 小池隆夫)

Regulation of Fibrinolytic Factors

—With Special Reference to  $\alpha_2$ -Macroglobulin and its Receptor—

Taro YASUKOUCHI\*, Masahiro SATOH\*, Masahiro IEKO\*\* and Ken-ichi SAWADA\*\*

\* Department of Internal Medicine, School of Dentistry,  
Health Sciences University of Hokkaido

\*\* Second Department of Internal Medicine,  
Hokkaido University School of Medicine

\* (Chief: Prof. Taro YASUKOUCHI)

\*\* (Chief: Prof. Takao KOIKE)

Abstract

Fibrinolytic promotion factors are regulated by two processes: one is dependent on a complex formation between these factors and  $\alpha_2$ -macroglobulin ( $\alpha_2$ M), the other does not depend on complex formation.

1. With the complex formation: Here, the important roles of  $\alpha_2$ M are specially referred to.

In addition to the role of  $\alpha_2$ M as a protease inhibitor, a further role has been proposed for  $\alpha_2$ M as a binding protein of four major classes of proteases (serine, cysteine, aspartic and metalloproteases) and non-proteolytic amines, peptides, and proteins.

A protease, as tissue plasminogen activator (tPA), trapped by  $\alpha_2$ M suffers an apparent decrease in activity compared with free tPA, but the activity is preserved and protected from the specific inhibitor, as plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1). Plasmin trapped by  $\alpha_2$ M, however, is not able to dissolve fibrin. The reason for this phenomenon appears to be that the

---

受付: 平成7年3月30日

fibrin molecule is too big to be attacked by the active center of plasmin in  $\alpha_2M$ , although the plasmin still reserves the activity.

The binding of  $\alpha_2M$  to methyl-amine or protease activates  $\alpha_2M$  and takes part in a conformational change. The  $\alpha_2M$ -protease complex, however, exposes the recognition site of the  $\alpha_2M$  to the specific receptor and is rapidly removed from circulating blood. The  $\alpha_2M$  specific receptor ( $\alpha_2MR$ ) is identical with low density lipoprotein (LDL) receptor-related protein (LRP) : LRP/ $\alpha_2MR$ . In addition,  $\alpha_2M$  is an acute phase reactant and seems to trap various enzymes and products induced from inflammatory processes. Therefore, the most important role of  $\alpha_2M$  is considered to be as a scavenger in circulating blood.

2. The second process of regulation of fibrinolytic promotion factors directly depends on LRP/ $\alpha_2MR$  :

Plasminogen activator (PA) such as tPA or urokinase (uPA) forms a complex with PAI-1. This complex is trapped by LRP/ $\alpha_2MR$ , which is expressed on the cell surface of the liver, and is removed rapidly from circulating blood. The tPA, which does not form a complex with PAI-1, trapped by LRP/ $\alpha_2MR$ , is removed rapidly from circulating blood. The tPA, which does not form a complex with PAI-1, binds with PAI-1 already bound with vitronectin on the cell surface of liver. After the binding between tPA and PAI-1-vitronectin, the tPA-PAI-1 complex separates the vitronectin and the complex is also trapped by LRP/ $\alpha_2MR$ . The regulation of Pro-uPA proceeds as follows: pro-uPA binds uPA receptor (uPAR), PAI-1 binds the pro-uPA and forms a uPAR-pro-uPA-PAI-1 complex. The complex binds LRP/ $\alpha_2MR$  and is internalized in liver cells.

**Key words :** Fibrinolytic Factors,  $\alpha_2M$ , LRP/ $\alpha_2MR$

## 緒 論

線維素溶解現象(線溶)の亢進は血管内凝固症候群(DIC)において、滲み出る出血(oozing)やびまん性紫斑によって特徴付けられるが、通常の生活においても、ストレスや打撲や外傷などの緊急時には血管壁から組織プラスミノゲンアクチベーター(tissue plasminogen activator: tPA)が放出されプラスミノゲン(Plasminogen; Plg)がプラスミン(Plasmin: Pn)に変換され、血栓形成を阻止するように作用する<sup>1)</sup>と考えられている。

また、心筋梗塞や脳血栓症について考察を加えると、これらの基礎疾患では、動脈硬化症が

進行していて、血管壁内でのtPAの貯蔵の低下があるか、あるいは、tPAの特異的阻害因子であるプラスミノゲンアクチベーターインヒビター(plasminogen activator inhibitor; PAI)-1が血管壁内に過剰に貯蔵されるために、何らかの原因によって血栓が生じた場合に血管から放出されて血栓内の線維素(フィブリン: fibrin; Fn)が溶解し難いことが脳血栓の成因に関与していると言われている。

線溶促進因子であるtPAは血栓形成を防止、あるいは、出来上がった血栓の分解を促進する重要なセリン蛋白分解酵素(serine protease)であり、心筋梗塞の治療に用いられている。tPAはFnに結合しているPlgと結合して固相(solid

phase)でPlgを活性化してPnに変換し、Fnを分解することによって血栓を溶解する。しかしながら、血液中のtPAはtPAの活性基を塞ぐ特異的な阻害物質であるPAI-1によって速やかに阻害される<sup>2,3</sup>ので、血栓溶解剤としてのtPA活性の効果はPAI-1の量によって規制されると考えられている。

一方、循環血液中には蛋白分解酵素 (protease;プロテアーゼ) と結合するアルファ2-マクログロブリン ( $\alpha_2$ -macroglobulin:  $\alpha_2$ M)が大量に存在する<sup>4</sup>。 $\alpha_2$ MはPnの特異的な阻害物質である $\alpha_2$ -プラスミン インヒビター ( $\alpha_2$ -plasmin inhibitor;  $\alpha_2$ -PI) やPAI-1などのセリン プロテアーゼ阻害因子スーパーファミリー (serine protease inhibitor super family; serpin)<sup>5-7</sup>とは異なる阻害因子として知られていたが、その作用機序はserpinsとは異なり $\alpha_2$ Mのbait region<sup>8</sup> (罠) によって、proteaseを取り込むことによるものである。 $\alpha_2$ M-protease複合体形成によって、 $\alpha_2$ Mに取り込まれたproteaseはその活性が低下、あるいは、阻害されるので、 $\alpha_2$ Mは長い間、serine proteaseの阻害因子と見

なされて来たが、 $\alpha_2$ Mに取り込まれたproteaseはその活性を保持することが明らかにされた<sup>4/9-12</sup>。また、 $\alpha_2$ Mに取り込まれたproteaseはその阻害因子から保護されることも報告されている<sup>13/14</sup>。換言すれば、tPAはPlgやPAI-1だけでなく、 $\alpha_2$ Mにも結合するが、 $\alpha_2$ M-tPA複合体の形成がtPAによる血栓溶解療法に与える影響について考察を加える必要がある。

近年、このような $\alpha_2$ M-protease複合体はマクロファージ、線維芽細胞、リンパ細胞や肝細胞など<sup>15</sup>の細胞表面に存在する $\alpha_2$ M受容体 ( $\alpha_2$ M receptor;  $\alpha_2$ MR)<sup>16/17</sup>によって細胞内に取り込まれ、循環血液中から消失することが判り、 $\alpha_2$ MRがapo E (アポ蛋白E) の受容体であるlow density lipoprotein receptor related protein (LDL受容体関連蛋白; LRP) と同一であることが明らかにされた<sup>18/19</sup>。従って本文ではこの受容体をLRP/ $\alpha_2$ MRと表示する。

さらに、ウロキナーゼ (urokinase; uPA) -PAI-1複合体やtPA-PAI-1複合体は直接的にLRP/ $\alpha_2$ MRを介して代謝されることが明らかにされている<sup>20</sup>。

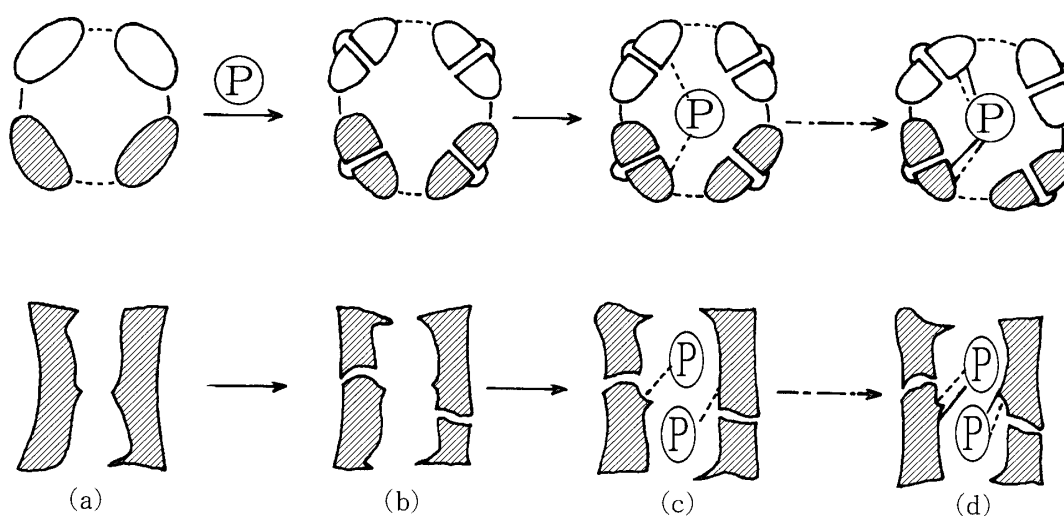


図1： $\alpha_2$ Mとproteaseとの複合体形成

Pはprotease, 点線は非共有結合。実線は共有結合。--->はゆっくりした反応を示す。aはnative  $\alpha_2$ Mの状態, bは $\alpha_2$ Mのbait regionの解離, cの状態は可逆性の反応, cは不可逆性の反応を示す。なお、cの反応は $\alpha_2$ Mに取り込まれたproteaseが入れ替わると考えられることを意味する反応である。上段のシェーマは $\alpha_2$ Mの4個のサブユニットの変化を示す。仮にこれを上面図とすると、下段の図は上段の変化を側面から眺めたシェーマになる。

## I. $\alpha_2$ Mと線溶系プロテアーゼ

### a. $\alpha_2$ M結合形式

人の $\alpha_2$ Mは血漿グロブリンの約20%を占める<sup>21)</sup>分子量 (Mr) = 720,000の糖蛋白で<sup>22)</sup>IL-6の刺激によって肝臓で合成, 分泌される<sup>23)</sup>acute phase reactant (急性期反応物質) であり<sup>24/25)</sup>, 4個の同一サブユニットからなる<sup>22)</sup>。 $\alpha_2$ Mはserine—(tPA, Pn, トリプシン; trypsin, カリクレイン; kallikrein, トロビン; thrombin等), チオール(thiol)—, カルボキシル(carboxyl)—, および, メタル(metal)—proteasesの4 major proteinsと結合する<sup>26/27)</sup>だけでなく, proteaseではないサイトカイン(cytokines), 種々の成長因子(growth factors)<sup>28)</sup>および, セロトニン(serotonine)やメチールアミン(methyl-amine)などの小分子のnucleophilic (求核性; 求反応中心核性) monoamines (モノアミン) と結合すること<sup>29)</sup>が知られている。

$\alpha_2$ Mとproteaseとの反応は1) 両者の遭遇 2)  $\alpha_2$ M分子内のbait regionの解離 3) この時点で, 可逆性複合体形成 4) ゆっくり進む $\alpha_2$ Mの構造変化(conformational change) 5)

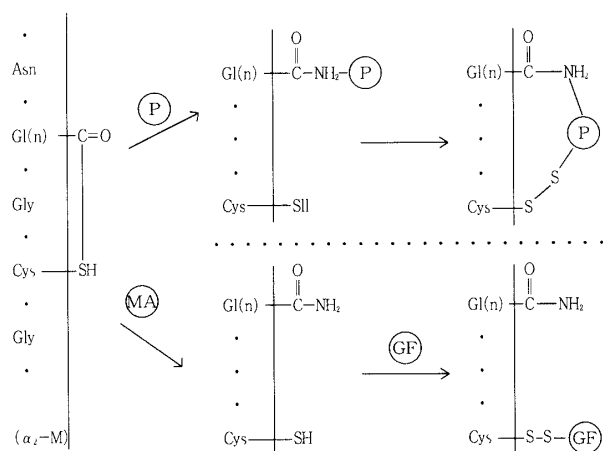


図2: 上段の反応は $\alpha_2$ Mとproteaseとの反応を, 下段の反応は $\alpha_2$ Mとgrowth factor (成長因子)との反応を示す。Pはproteaseを, MAはnucleophilic monoamineを, GFはgrowth factorを示す。 $\alpha_2$ MとGFが結合するにはMAによる $\alpha_2$ Mのthioester結合の解離によってthiol(SH)基が遊離する必要がある。

$\alpha_2$ M内のthioester部位における速やかな反応 6) 比較的ゆっくり進行する共有結合の順に段階的に把握されるが, 4)と5)の反応は同時進行的かも知れないとの主張も見られる<sup>30)</sup>(図1, および, 2)。

我々はin-vitroで, 血漿に1本鎖(one-chain)tPA (tPAは1本鎖として血管壁から放出され, エラスターゼなどによって2本鎖<two-chain>tPAに変わる<sup>2/3)</sup>)を添加して血液中のtPA動態をゲルろ過にて検討した<sup>31)</sup>。その結果, 添加した分子量60KDaのtPAのほかに, 分子量120KDaのtPA-PAI-1複合体とろ過液のvoid volumeの部位にtPAの存在を確認し, 大きい分子量の蛋白質とtPAが複合体を形成して血液中に存在することを明らかにしたが, このvoid volumeの蛋白質が $\alpha_2$ Mであることは, ほぼ間違いない<sup>32)</sup>。我々はこの複合体はイオン強度を上げることによって解離することから,  $\alpha_2$ MとtPAとの結合は非共有結合であると考えている。すなわち, 上記の6)の結合形式は確認できなかった。

一方,  $\alpha_2$ Mとcytokinesとの結合は,  $\alpha_2$ Mのチオエステル(thioester)をattackするnucleophilic monoamineによって, 活性化されていない(native) $\alpha_2$ Mからチオール(thiol)基が遊離して, いわゆる, 活性化された $\alpha_2$ Mと結合する<sup>28/33)</sup>(図2)。活性化 $\alpha_2$ Mとcytokinesとの結合は, はじめは, 非共有結合で可逆性であるが, 次第に共有結合(S-S結合)して不可逆性になるとの報告<sup>34)</sup>もある。

電子顕微鏡によって明らかにされたnative $\alpha_2$ Mはローマ字のHの形に似た構造をしているが, proteaseと結合した $\alpha_2$ Mはロシア文字の氷に似た構造をしていることが明らかにされている<sup>35)</sup>。また, methylalmineやproteaseと結合すると電気泳動上slow formからfast formに変わることが知られている<sup>36)</sup>。

### b. $\alpha_2$ Mは線溶阻害因子か

線溶系促進因子はserine proteaseであり, Fn

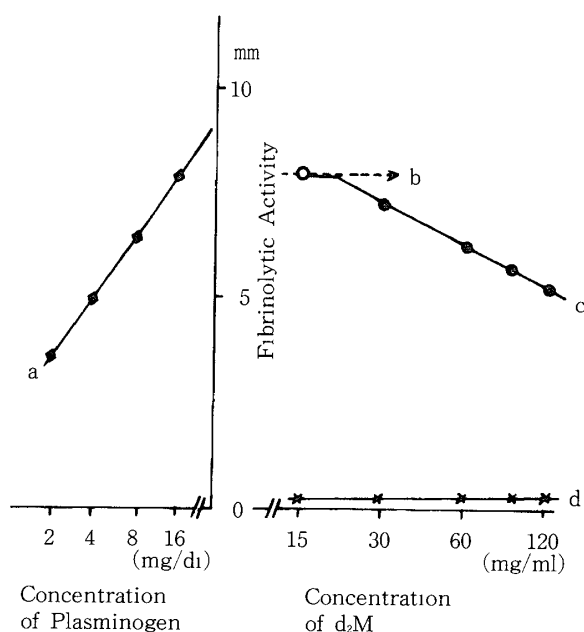


図3： $\alpha_2M$ による線溶阻害

線溶活性は基質としてplasminogen-free fibrinを用いた一次元拡散法による成績である。aは段階希釈されたplasminogenに終濃度42.5IU/mlになるようにurokinaseを添加した場合のstandard curveを示す。bは14.5mg/dl plasminogenと42.5IU/ml urokinaseを、cはbに種々の濃度の $\alpha_2M$ を添加した成績を示す。dはCepharose 4BにCNBrを結合してurokinaseを固層化したGelでplasminogenをplasminに変換し、bのレベルの活性を示すplasmin溶液に種々の濃度の $\alpha_2M$ を添加した成績である。すなわち、dの混和液中にはurokinaseは含まれていない。

を分解するPnの線溶活性（一次元拡散法<sup>37/38</sup>）は $\alpha_2M$ によって明らかに抑制される。しかしながら、PlgをPnに変換するuPAとPlgと $\alpha_2M$ とを同時に混合した場合のFn分解では $\alpha_2M$ による線溶抑制はそれ程強いものではない(図3)。一方tPAに対する $\alpha_2M$ の影響について、我々はtPAとしてrecombinant two-chain tPA (t-rtPA; Duplilase, Sumitomo Pharmacia Co.) を、基質としてs-2251を用い、parabolic rate assay<sup>39-42</sup>によって検討した。終濃度5.4 mg/mlの $\alpha_2M$ （血漿より精製<sup>27</sup>）に種々の濃度のt-rtPAを添加した場合の残存tPA活性を示す(図4)。

$\alpha_2M$ によるtPA活性の抑制は $2.0 \pm 0.8$  IU/mlに過ぎず、 $84 \pm 6.4\%$ の活性が保持されたが、 $\alpha_2M$ がtPA活性を阻害するということも出来

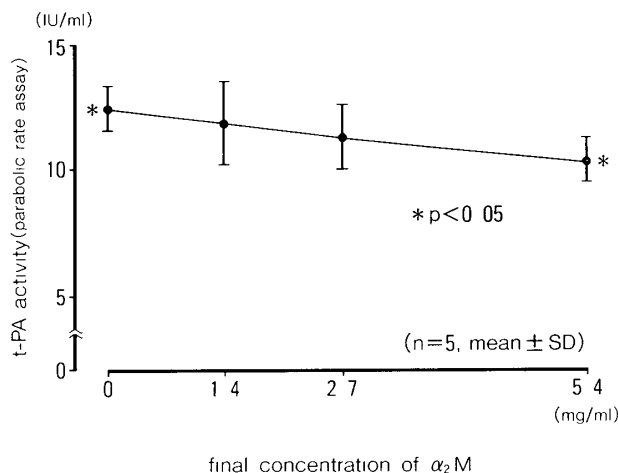


図4：tPAの活性に対する $\alpha_2M$ の影響 12.5IU/mlのtPAに種々の濃度の $\alpha_2M$ を添加して、残存するtPA活性をparabolic rate assayで測定した。

る。

uPA, Plgと $\alpha_2M$ 混合液に見られる現象については、uPAによってPlgがPnに変換される前に $\alpha_2M$ にuPAが結合しているために生じるPnに結合出来る $\alpha_2M$ が残存していないか、生じたPnがuPAと結合していない $\alpha_2M$ と結合するよりもFnとの親和性が強いのかについては明確にされてはいない。

### c. $\alpha_2M$ のprotease活性の保持、および、PAI-1に対する影響

1996年P. O. Ganrotおよび1967年 R. Swenson & J. B. Howardらによって、 $\alpha_2M$ と結合したtrypsinはsoyben trypsin inhibitor（大豆のトリプシン阻害物質）の影響を受けないことを明らかにしている<sup>8</sup>。我々はt-rtPA、および、濃縮血小板の遠心上清からMono<sup>R</sup>Q（HR5/5, Pharmacia AB, Uppsala, Sweden）を用いHPLCにて精製したPAI-1<sup>43</sup>（tPA活性をほぼ1:1の割合で阻害する）を用いて $\alpha_2M$ との関係を基質としてs-2251を用い、活性はparabolic rate assayにて検討した。あらかじめ、25.0 IU/mlのtPAに等価のPAI-1を添加5分後、48mg/dlの $\alpha_2M$ を加えると、残存tPA活性は15 IU/ml (60%)を示し、同量のtPAと $\alpha_2M$ を混合5分後にPAI-1を添加すると、18 IU/ml (73%)の残存tPA活

性を示し,

$\alpha_2$ Mによって, tPAの活性が保持される<sup>44</sup>。

ここで, 最も重要なことは, s-2251はtPAによって発色せず(分解せず), 添加されたPlgがtPAによってPnに活性化されることによって発色することである。このことは,  $\alpha_2$ Mに取り込まれたtPAが分子量Mr. 40,000のPAI-1から保護されるだけでなく, PAI-1よりも分子量が大きいMr. 90,000のPlgを活性化出来ることを示唆するものである。Plgが $\alpha_2$ M-tPAによって活性化されるということは血中のPlgが $\alpha_2$ M-tPA複合体に取り込まれて $\alpha_2$ Mに結合しているtPAによってPnに変換されるものと考えられるが, Plgより分子量が小さいPAI-1が $\alpha_2$ M-tPAの活性を阻害し得ない理由については $\alpha_2$ M-tPAの中に入り得る蛋白質の分子量の大小からだけでは説明出来ない。

$\alpha_2$ M-Pn複合体もPn活性を保持し, Fbg (Mr. 340,000)を分解することが出来る<sup>4</sup>と言われているが, このことは $\alpha_2$ M-serine proteaseがかなりの大きさの基質まで分解出来ることを示している。なお, 我々の検討ではFnを分解することは出来ない。

#### d. In-vivoにおけるtPAの動態

$\alpha_2$ Mとnon-proteolytic protein (非酵素蛋白)との結合率は $\alpha_2$ M 30 molに対してインスリン(insulin)は1 molと極めて低く, TGF- $\beta$ との結合率はさらに低い<sup>28)</sup>。一方, proteaseと $\alpha_2$ Mとの結合率はその基質, および, 阻害物質の量と反応速度等に影響されると思われるが, proteaseと $\alpha_2$ Mとの結合率はかなり高いと考えられる。ちなみに, PAI-1とone-chain tPAの結合は分単位の反応であるのに比し, two-chain tPAとの反応は極めて早い<sup>45-47)</sup>。このことは, 心筋梗塞の治療にはone-chain tPAを用いる方がより効果的であることを示唆しているが, 上記のin-vitroにおける $\alpha_2$ MのtPAとPAIとの反応への関与をin-vivoで確認する目的で心筋梗塞

患者9名にtwo-chain tPAを投与, s-2251を用いて検討を加えた。その結果, 循環血液中のtPA活性はPAI-1活性とは相関せず, PAI-1/ $\alpha_2$ Mの比率に逆相関( $\gamma=0.78$ )することが明らかとなった(未発表)。この事実は投与されたtPAが循環血液中においても $\alpha_2$ Mとの複合体を形成することを示唆するものである。

#### e. $\alpha_2$ Mの代謝とLRP/ $\alpha_2$ MR

前述したごとく,  $\alpha_2$ Mはnucleophilic monoaminesやproteasesと結合することによって活性化され, 肝細胞, 線維芽細胞, リンパ球, および, マクロファージ上に存在する $\alpha_2$ M受容体と結合して細胞内に速やかに取り込まれる。一方, リポ蛋白代謝の研究からカイ

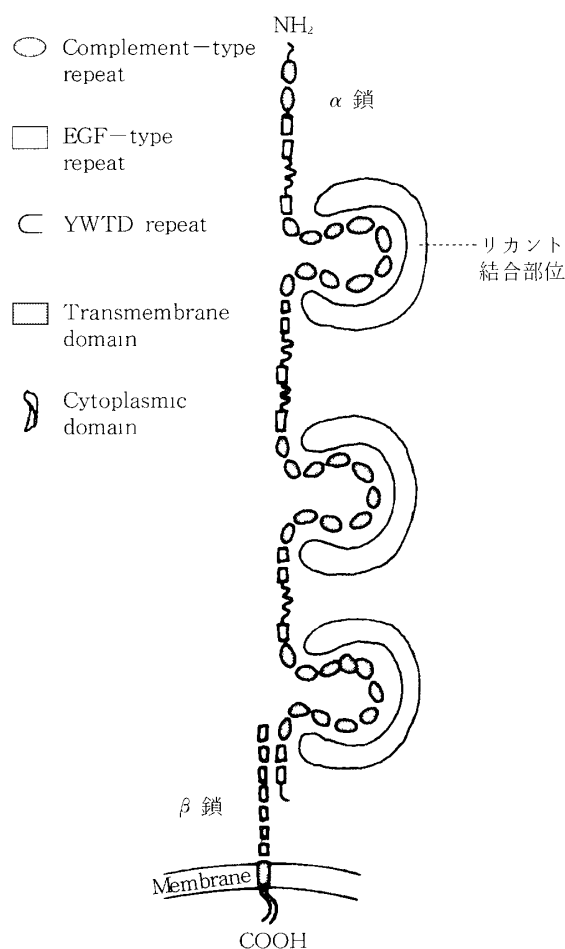


図5 LRP/ $\alpha_2$ MRの分子構造

$\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖からなり, リガンド結合部位は補体の構造に類似する繰り返し(complement-type repeat)がある。

ロミクロンレムナントの受容体と考えられているLDL受容体関連蛋白 (LDL-receptor-related protein; LRP) はリポ蛋白のapo Eの受容体であり, apo Eの豊富な $\beta$ -VLDLの細胞内への取り込みに関与する<sup>48/49</sup>). このLRP/ $\alpha_2$ MRは人の膜性腎炎に似たHaymann nephritisの抗原であるラットのgp330<sup>50/51</sup>), LDL受容体 (LDLR), very low density lipoprotein受容体 (VLDLR) との構造の類似から, これらの受容体は1つのfamily receptorとして取り扱われている<sup>52/53</sup>). LRP/ $\alpha_2$ MRはMr.500KDaの $\alpha$ -鎖と膜通過性の $\beta$ -鎖 (Mr.85 KDa) からなる糖蛋白で多能性の受容体である<sup>52</sup>) (図5.). すなわち, 活性化された $\alpha_2$ M (例えば,  $\alpha_2$ M-tPA複合体) はLRP/ $\alpha_2$ MRによって細胞内に取り込まれ, 代謝される<sup>51/53</sup>). 活性化された $\alpha_2$ Mの代謝にはG-protein-coupled signaling  $\alpha_2$ MRという第二の受容体も関与するとの報告もある<sup>54</sup>).

活性化された $\alpha_2$ Mは速やかに循環血液から消失する<sup>54</sup>)と言われるが, methylamineで活性化した後では, そのhalf lifeは2-4分と極めて早

い<sup>54/55</sup>)が,  $\alpha_2$ M-methylamine複合体作成直後の代謝は明らかではない。また,  $\alpha_2$ M-protease複合体では少なくとも反応初期では複合体は可逆性であり<sup>56</sup>),  $\alpha_2$ Mのconformational changeはゆっくりした反応であり, この後で, LRP/ $\alpha_2$ MRとの結合部位が露呈するとの主張もある<sup>57</sup>)が, 複合体形成のどの時点で速やかに代謝されるかは明らかではない。換言すれば,  $\alpha_2$ Mがproteaseのbinding proteinとしてどの程度の役割を担っているかについてもさらに検討の必要性があろう。

## 2. $\alpha_2$ Mを介さない線溶系因子の代謝

線溶系促進因子であるuPA (two-chain uPA) はuPA-PAI-1複合体としてLRP/ $\alpha_2$ MRに結合するが, free uPAは細胞表面に存在するuPA受容体 (uPAR) を介して, PAI-1と結合して受容体と結合する。さらにone-chain uPA (pro-uPA) もまたuPARを介して受容体と結合するが, uPAを介する結合はuPA-PAIとのaffinity (親和性) ははるかに弱い<sup>52</sup>).

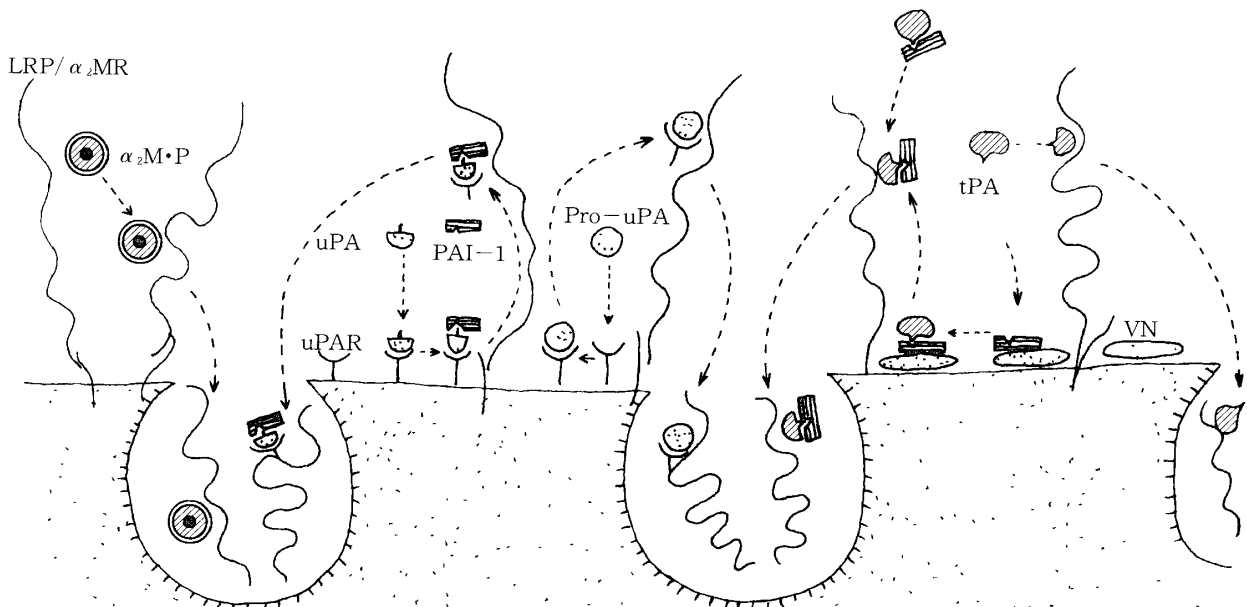


図6 : LRP/ $\alpha_2$ MRを介する線溶系因子の細胞内への取り込み

各種のリガンドは細胞内のendosomeに取り込まれ, lysosomeで代謝される。一方, uPARやLRP/ $\alpha_2$ MRはrecyclingされて, 再度細胞表面に表出する<sup>52</sup>). VN: vitronectin, tPA: tissue plasminogen activator, PAI-1: plasminogen activator inhibitor, Pro-uPA: pro-urokinase, uPAR: urokinase receptor, uPA: urokinase,  $\alpha_2$ M·P:  $\alpha_2$ -macroglobulin-protease complex.



一方, tPAは, tPA-PAI-1複合体としてLRP/ $\alpha_2$ MRに結合するが, PAI-1と結合していない free tPAは直接, あるいは, 肝細胞外壁にあるビトロネクチン (vitronectin) と結合している PAIと複合体を形成して vitronectin を解離して tPA-PAI複合体として受容体に結合し, 細胞内に取り込まれる<sup>52/58)</sup> (図6)。

Pnは  $\alpha_2$ -plasmin inhibitor ( $\alpha_2$ -PI) との複合体を形成するが, Pn- $\alpha_2$ PI複合体の代謝に LRP/ $\alpha_2$ MRが関与するか否かは明らかではない。

human Hep-G2 cellには細胞1個当たり76,000のtPA高親和性の部位がある<sup>59)</sup>。LRP/ $\alpha_2$ MRにおけるこれらのリガンドとの結合部位はtPA-PAI-1とuPA-PAI-1複合体は競合するようであるが, t-PAと $\alpha_2$ M,  $\alpha_2$ MとapoEとは競合しないこと<sup>59)</sup>から, 肝細胞1個にtPA高親和性の数に相当するLRP/ $\alpha_2$ MRが存在すると思われる。なお, 線溶因子以外のそれぞれのリガンドに特有の部位が想定されている。特に, LRPに随伴して合成される受容体関連蛋白 (receptor associated protein <RAP>; Mr. 39KDa) がapo Eが豊富な $\beta$ -VLDLや $\alpha_2$ MのLRP/ $\alpha_2$ MRへの結合を阻止すること, さらに, RAPが流血中では証明されないことなど<sup>52)</sup>より, RAP存在の意義が注目されている。

## 終わりに

以上, 線溶系因子の代謝を中心に述べて来たが, 要約すると, 線溶系因子の代謝には肝細胞上のLRP/ $\alpha_2$ Mが深く関与するが, 大きく分けて2つのルートがある。1つは $\alpha_2$ MRを介するルートで線溶促進因子が $\alpha_2$ Mと結合し,  $\alpha_2$ Mを活性化することによって, LRP/ $\alpha_2$ MRと結合するルートであり, もうひとつのルートは $\alpha_2$ Mを介さないルートでLRP/ $\alpha_2$ MRと結合し, 肝細胞内に取り込まれて代謝されるということである。 $\alpha_2$ Mを介するルートを理解するためには,

$\alpha_2$ Mについての考察が重要である。 $\alpha_2$ Mは線溶促進因子の阻害因子として知られていたし, そのように働くこともある。たとえば,  $\alpha_2$ M-Pn複合体は重合体を形成しているFnを分解することはできない。しかしながら,  $\alpha_2$ Mは本質的には, むしろ, 線溶促進因子をその特異的な阻害因子から保護して, 活性を保持させるように働くと考えられる。 $\alpha_2$ M-protease複合体は分子量が比較的大きい基質を分解できるが, 特異的阻害因子からproteaseを保護するメカニズムは明らかにされてはいないようである。

実際に血液内にtPAが生じた場合, tPAの血液内での存在形式はかなり複雑になる。Fn非存在下の血液中ではfree tPA, tPA-PAI-1複合体, および,  $\alpha_2$ M-tPA複合体として存在すると思われるが, Fn存在下ではfree tPA, tPA-Plg-Fn複合体,  $\alpha_2$ M-tPA複合体 (Fn単量体などのFn重合体よりもかなり小さい基質を取り込んでいるもの, いないもの) とtPA-PAI-1複合体など, 様々な形で存在すると考えられる。一方, 我々の検討においては, 治療目的で投与されるtPAの血液中のt-PA活性がPAI-1/ $\alpha_2$ Mの比率に逆相関したことは, 血液中のtPAの存在形式としての $\alpha_2$ M-tPA複合体形成の比率が高いことを示唆するものである。

$\alpha_2$ Mの役割について再考すると,  $\alpha_2$ Mは上述したごとく阻害因子というよりもproteasesやcytokinesなどの結合蛋白 (binding protein), あるいは, これらを運ぶ乗り物, 運び屋 (carrier protein) とみなすべきであるが,  $\alpha_2$ Mに取り込まれたproteaseの特異的阻害因子からproteaseを保護するprotecting protein (保護蛋白) と言うこともできよう。近年LRP/ $\alpha_2$ MRの研究が進むにつれて, 掃除屋 (scavenger protein) としても注目され始めた。

carrier proteinとしての $\alpha_2$ Mの役割の1つに, マクロファージにあるLRP/ $\alpha_2$ MRを介することによる免疫機構の第一段階, 抗原の取り込

みに関与するとも考えられている<sup>59)</sup>。また scavenger protein としては acute phase reactant として炎症に伴う過剰の線溶系 protease や分解産物の除去に関与すると思われる。acute phase reactant としての  $\alpha_2$ M の血中レベル, さらに, 肝臓障害の有無などを十分考慮すべきであろう。肝硬変の患者で血管内凝固症候群が起こることをよく経験するが, このような患者での蛋白質合成低下, あるいは, 肝細胞内における LRP/ $\alpha_2$ MR の再生機構<sup>52)</sup>の障害などの原因によって LRP/ $\alpha_2$ MR の著しい減少が起こるとすれば free tPA, uPA のほか  $\alpha_2$ M と複合体を形成している thrombin, kallikrein, Pn, tPA などが血液内に残存するための現象として理解しやすい。

LRP/ $\alpha_2$ MR については動脈硬化症発症の一因とみなす意見もあり<sup>60)</sup>, 今後の研究の発展が期待される。

## 文 献

1. 安河内太郎: 特集: 血栓: 血栓形成と線溶系, Progress in Medicine, 4: 2221-2226, 1983.
2. 安河内太郎: 線維素溶解現象の臨床的意義, 血液凝固と線溶の動的平衡, 東日本歯学雑誌, 3: 139-144, 1984.
3. 安河内太郎: 線溶機構に関する最近の進歩, 臨床病理, 34: 235-246, 1986.
4. Hapel, P. C. and Brower, M. S.  $\alpha_2$ -Macroglobulin: an introduction, chemistry and biology of  $\alpha_2$ -macroglobulin, 1-9, Ann. N. Y. Acad. Sci., 421: 1-9, 1983.
5. Carrel, R. W. and Boswell, D. R.: Serpins: The superfamily of serine protease inhibitors, Ed: Barrett, A. J. and Salvesen, G.: In Proteinase inhibitors, pp 403-420, Elsevier. Amsterdam and New York, 1986.
6. Huber, R. and Carrell, R. W.: Implications of the three dimensional structure of  $\alpha_1$ -antitrypsin for structure and function of serpins, Biochemistry, 28: 8951-8966, 1989.
7. Gettins, P., Patson, P. A. and Shapira, M.: Structure and mechanism of action of serpins, Hematol. Oncol. Clin. North Am, 6: 1393-1408, 1992.
8. Hapel, P. C.: Studies on human plasma  $\alpha_2$ -macroglobulins enzyme interactions.—Evidence for proteolytic modification of the subunit chain structure. J. Exp. Med. 138: 508-521, -1973.
9. Hapel, P. C. and Mosesson, M. W.: Degradation of human fibrinogen by plasma  $\alpha_2$ -macroglobulin-enzyme complexes, J. Clin. Invest., 52: 2175-2184, 1973.
10. Rinderknecht, H. and Geokas, M. C.: Role for  $\alpha_2$ -macroglobulin in haemostatic balance, Nature New Biol., 239: 116-117, 1972.
11. Rinderknecht H. and Geokas, M. C.: On the physiological role of  $\alpha_2$ -macroglobulin, Bioshim Biophys. Acta 295: 233-244, 1973.
12. Heimbürger, N. Haupt, H. and Schwick, H. G.: Proteinase inhibitors of human plasma, Ed. Fritz, H. and Tschesche, H.: In Proceeding of the international research conference on protease inhibitors, pp. 1-22, Walter de Gruyter, New York, N. Y. 1971.
13. Ganrot, P. O.: Determination of  $\alpha_2$ -macroglobulin trypsin-protein esterase, Clin. Chim. Acta, 14: 493-495, 1979.
14. Swenson, R. and Howard, J. B.: Structural characterization of human  $\alpha_2$ -macroglobulin subunits, J. Biol. Chem., 254: 4452-4456, 1979.
15. Moestrup, S. K. Gliemann, J. and Pallesen, G.: Distribution of the  $\alpha_2$ -macroglobulin receptor/low density lipoprotein receptor-related protein in human tissues, Cell Tissue Res., 269: 17401-17404, 1992.
16. Van Leuven, F. Cassiman, J. J. and Van den Beroghe, H.: Functional modifications of  $\alpha_2$ -macroglobulin primary amines, I. Characterization of  $\alpha_2$ -M after derivatization by methylamine and by factor XIII., J. Biol. Chem., 256: 9016-9022, 1981.
17. Hanover, J. A., Willingham, M. C. and Pastan, I.: Receptor-mediated endocytosis of  $\alpha_2$ -macroglobulin: Solubilization and partial purification of the fibroblast  $\alpha_2$ -macroglobulin receptor, Ann. N. Y. Acad. Sci., 421: 410-423, 1983.
18. Strickland, D. K., Ashcom, J. D. Williams, S. Burgess, W. H., Migliorini, M. and Ar-

- graves, W. S. : Sequence identity between the  $\alpha_2$ -macroglobulin receptor and low density lipoprotein receptor-related protein suggests that this molecule is a multifunctional receptor, *J. Biol. Chem.*, 256:17401-17404, 1990.
19. Kristensen, T., Moestrup, S. K. Gliemann, J., Bendtsen, L., Sand, O. and Sottrup-Jensen, L. : Evidence that the newly cloned LRP is the  $\alpha_2$ -macroglobulin receptor, *FEBS Lett.* 276: 151-155, 1990.
  20. Warshawsky, I., Bu, G. and Schwartz, A. L. : LRP and receptor-mediated endocytosis of plasminogen activators, *N. Y. Acad. Sci.*, 737: 70-87, 1994.
  21. Hapel, P. C. and Brower, M. S. :  $\alpha_2$ -Macroglobulin: An introduction, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 421:1-9, 1983.
  22. Sottrup-Jensen, L. :  $\alpha_2$ -Macroglobulin: Structure, shape, and mechanism of proteinase complex formation, *J. Biol. Chem.* 264: 11539-11542, 1989.
  23. Horn, F., Wegenka U. M., Lueticken, C., Yaun, J., Buschmann J. and Heinrich, P. C. : Regulation of  $\alpha_2$ -macroglobulin gene expression by interleukin-6, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 737: 308-323, 1994.
  24. Kushner, I. : The phenomenon of the acute phase response, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 389:39-49, 1982.
  25. Gordon, A. H. and Koj, A. : The acute phase response to injury and infection, In research monographs in cell and tissue physiology Vol. 10. Elsevier. Amsterdam, New York, 1985.
  26. Lorand, L., Downey, T., Gotoh, T., Jacobsen, A. and Tokura, S. : The transpeptidase system which crosslinks fibrin by  $\gamma$ -glutamyl- $\epsilon$ -lysine bonds, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 31:220-230, 1968.
  27. Hapel, P. C. : Human  $\alpha_2$ -macroglobulin, Ed. : Lorand, L. : *Method in Enzymol.*, 45: pp. 639-652, Academic Press, New York, San Francisco and London, 1975.
  28. Gettins, P. G. W. and Crews, B. C. : Binding of epidermal growth factor to human  $\alpha_2$ -macroglobulin significance for cytokine  $\alpha_2$ -macroglobulin interactions, *Ann N. Y. Acad. Sci.*, 737:383-398, 1994.
  29. Swenson, R. and Howard, J. B. : Characterization of alkylaminesensitive site in  $\alpha_2$ -macroglobulin, *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 76: 4313-4316, 1979.
  30. Feiman D. R. : The protease-binding reaction of  $\alpha_2$ M, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 737:254-266, 1994.
  31. Yasukouchi T., Sakurama, S., Satoh, M., Sawada, K., Fujie, T., Ieko, M. Thoma, Y., Handa, H., Mita, M. Sato, N. and Nakagawa, S. : The behavior of tissue plasminogen activator in human plasma., Ed. : Gaffney, P. G. Castellino, F. J. Plow, E. f. and Takada, A. : *Fibrinolysis, Current prospects*, pp. 185-190, John Libbey, London and Paris, 1988.
  32. Sakurama, S. and Wiman, B. : Reversible binding protein of functional tissue-plasminogen activator in human plasma : (1)  $\alpha_2$ -macroglobulin identified as purified binding protein, *Throm. Haematos.*, 62:393, 1985.
  33. McCaffrey, T. A. Falcone, D. J. Borth, W. and Weksler, B. B. :  $\alpha_2$ -Macroglobulin/transforming growth factor- $\beta$ 1 interactions, *Ann N. Y. Acad.*, 737:368-382, 1994.
  34. Gonias, S. L. LaMarre, J., Crookston, K. P., Webb, D. J., Wolf, B. B., Lopes, M. S. Moses, H. L. and Hayes, M. A. :  $\alpha_2$ -Macroglobulin receptor/LRP, A growth regulatory axis, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 273-290, 1994.
  35. Schramm, W. : Computer averaging of single molecules of two forms of  $\alpha_2$ -macroglobulin and the  $\alpha_2$ -macroglobulin/trypsin complex, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 421:149-159, 1983.
  36. Barrett, A. J., Brown, M. A, and Sayers, C. A. : The electrophoretically "slow" and "fast" forms of the  $\alpha_2$ -macroglobulin molecule, *Biochem. J.* 181:401-418, 1979.
  37. Yasukouchi, T. and Watanabe, T. : A new method based on one dimensional diffusion using glass tubes for the measurement of fibrinolytic activity, I. Fibrinolytic activity of plasmin and "euglobulin+streptokinase", *Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.)*, 329-341, 1972.
  38. Yasukouchi, T., Fujie, M. Kohn, S., Sakur-

- ama, S. Morioka, T., Mikami, A. Iju, M., and Nakagawa, S. : A method for the measurement of fibrinolytic activity based on one dimensional diffusion using small glass tubes, II. With special reference to the differences between the use of plasminogen-rich fibrinogen and that of plasminogen-free fibrinogen as the substrates, *Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.)*, 37: 456-463, 1977.
39. Rånby, M. and Wallén, P. : A sensitive parabolic rate assay for tissue plasminogen activator, Ed. : Davidsson, J. F., Nilson, I. M. and Åstedt, B. : *Progression fibrinolysis*, Vol. 5, pp, 233-235, Churchill Livingstone, Edinburgh, 1981.
40. Rånby, M. Norrman, B. and Wallén, P. : A sensitive assay for plasminogen activator, *Thrombos. Res.* 27: 743-749, 1982.
41. Wiman, B., Mellbring, B. and Rånby, M. : Plasminogen activator release during venous stasis and exercise and as determined by a new specific assay, *Clin. Chim. Acta.*, 127: 279-288, 1983.
42. 桜間照喜, 家子正祐, 藤田祐紀, 藤江貞二, 沢田賢一, 半田 洋, 佐藤典尋, 佐藤雅寛男, 安河内太郎, 中川昌一: テストチーム発色基質S-2251を用いる Parabolic Rate Assay法によるヒト血中のtPAおよびPAIの測定, *クリニカルニュース*, 11: 3-17, 1990.
43. Fay, W. P. and Owen, W. G. Platelet plasminogen activator inhibitor: Purification and characterization of interaction with plasminogen activator and activated protein C, *Biochem.* 28: 5773-5778, 1989.
44. Ieko, M., Sakurama, S., Thoma, Y., Fujie, T., Satoh, M., Yasukouchi, T., Sato, N., Handa, H., and Nakagawa, S.: Reversible binding protein of functional tissue-type plasminogen activator in human plasma, (III) It's protective effect on t-PA activity inhibition caused by plasminogen activator inhibitor, *Thrombo. Haemostas.*, 62: 1245, 1989.
45. Yasukouchi, T., Fujie, T., Sakurama, S., Satoh, M., Ieko, M. and Nakagawa, S. : The effects of the PAI derived from human platelets on two different type of t-PA, *Thrombo. Haematos.*, 58: 446, 1987.
46. Hekman, C. M. and Loskutoff, D. J. : Kinetic analysis of the interactions between plasminogen activator inhibitor 1 and both urokinase and tissue plasminogen activator, *Arch. Biochem. Biophys.* 262: 199-210, 1988.
47. Thorsen, S., Philips, M., Selmer, J. L., Lécander, I. and Åstedt, B.: Kinetics of inhibition of tissue-type and urokinase-type plasminogen-activator by plasminogen-activator inhibitor type 1 and type 2., *Eur. J. Biochem.*, 175: 33-39, 1988.
48. Kowal, R. C., Herz, J. Goldstein, J. L., Esser, V. and Brown, M. S. : Low density lipoprotein receptor-related protein mediates uptake of cholesterol esters derived from apoprotein E-enrich lipoproteins, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 86: 5810-5814, 1989.
49. Beisiel, U. Weber, W., Ihrke, G., Herz, J. and Stanley, K. K. : The LDL-receptor-related protein, LRP, is an apoprotein E-binding protein, *Nature*, 341: 162-164, 1989.
50. Kerjarschki D. and Farquhar, M. G. : Identification of membrane glycoprotein from kidney brush border as pathogenic antigen of Heyman's nephritis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79: 5557-5561, 1982.
51. Kerjarschki, D. and Farouhar, M. G. : Immunohistochemical localization of the Heymann's nephritis antigen (gp 330) in glomerular epithelial cells of normal Lewis rats, *J. Exp. Med.*, 157: 667-686, 1983.
52. Williams, S. E. Kounnas, K. M., Argraves, W. S. and Strickland, D. K. : The  $\alpha_2$ -macroglobulin receptor/low density lipoprotein receptor-related protein and receptor-associated protein, An overview, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 737: 1-13, 1994.
53. 石橋 俊: LDL受容体関連蛋白 (LRP), *日本臨床*, 52: 3177-3183, 1994.
54. Gliemann, J., Nyljær, C. M. Petersen, C. M., Jørgensen, K. E., Andeasen, P. A., Christensen, E. I., Lookene, A., Olivecrona, G. and Moestrup, S. K. : The multiligand  $\alpha_2$ -macroglobulin receptor/low density lipoprotein receptor-related protein ( $\alpha_2$ MR/LRP), binding and endocytosis of fluid phase and membrane-

- associated ligands, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 737:20-38, 1994.
55. Chu, C. T., Howard, G. C., Misra, U. K. and Pizzo, S. V. .  $\alpha_2$ -Macroglobulin: A sensor for proteolysis, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 737: 291-307, 1994.
56. Boers, W., Linthorst, C., van Dijk, M. C. M. and van Berkel, T. J. C. : Uptake of methylamine-activated  $\alpha_2$ -macroglobulin by rat liver, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 737:428-430, 1994.
57. Ikai, A., Koyano, N. Mitsuda, S. and Shibuya, N. : Modulation of immune cell activities by  $\alpha_2$ -macroglobulin, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 737:339-346, 1994.
58. Feinman, R. D. : The protease-binding reaction of  $\alpha_2$ M, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 737: 246-266, 1994.
59. Warshawsky, I., Bu, G. and Schwartz, A. L. : LRP and the receptor-mediated endocytosis of plasminogen activators, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 737:70-87, 1994.
60. Lupu, F., Heim, D., Bachmann, F. and Kruithof, E. K. O. : Expression of LDL receptor related protein/ $\alpha_2$ -macroglobulin receptor in human normal and atherosclerotic arteries, *Arterioscler. Thromb.*, 13:1382-1389, 1993.